

Efek Protektif *Nigella sativa* Terhadap Karsinogenesis Sel Ginjal Tikus yang Diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA)

(Protective Effects of *Nigella sativa* Against Carcinogenesis in Renal Rat Cell Induced by 7.12-dimetilbenz(a)anthracene (DMBA))

DIAH AYU ANDINI^{1,2}, HANIF NASIATUL BAROROH¹, HENY EKOWATI^{1,2*}

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Sudirman, Karangwangkal Purwokerto.

²Center of Excellence for Translational Research in Oncology (CENTRO), Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, UNSOED, Purwokerto.

Diterima 26 Mei 2012, Disetujui 2 Maret 2013

Abstrak: Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tumbuhan yang mempunyai aktivitas antikanker. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak kloroform biji jintan hitam mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antikarsinogenesis ekstrak kloroform biji *N. sativa* pada tikus betina yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) berdasarkan gambaran histopatologi sel ginjal. Penelitian ini menggunakan hewan uji yang diinduksi DMBA dengan ekstrak kloroform *N. sativa* sebagai senyawa uji. Tikus betina galur *Sprague Dawley* dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok 1 diberi DMBA dosis 20 mg/kg BB. Kelompok 2, 3, 4, diberi DMBA dan ekstrak kloroform *N. sativa* dengan peringkat dosis 250; 500; 750 mg/kg BB. Kelompok 5 diberi *corn oil*. Histopatologi sel ginjal diamati dengan pengecatan H&E dan AgNOR. Daya hambat proliferasi sel diamati dengan penghitungan mAgNOR pada sel ginjal. Data pengamatan mAgNOR dianalisis menggunakan Kolmogorov – Smirnov, *one way* ANOVA dan Tukey HSD. Hasil pewarnaan H&E dan nilai mAgNOR menunjukkan pemberian ekstrak kloroform *N. sativa* dosis 750 mg/kg BB mampu mengurangi kerusakan sel dan menurunkan proliferasi sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA dengan nilai mAgNOR sebesar 1,069. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform *N. sativa* mempunyai potensi untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif.

Kata Kunci: *Nigella sativa*, DMBA, sel ginjal, tikus, karsinogenesis.

Abstract: Black cumin (*Nigella sativa*) is known to have anticancer activity. Previous study showed that chloroform extract of *N. sativa*, have cytotoxic activity on T47D cell line. The purpose of this study was to determine the antiproliferation activity of chloroform extract *N. sativa* in female rats induced-DMBA based on histopathologic changes on renal cell of cell proliferation and to observe the optimal concentration of *N. sativa* as antiproliferative agent. Sprague Dawley strain female rats were divided into five groups. Group 1 was given DMBA 20 mg/kg BW. Group 2, 3, 4, were given DMBA and chloroform extracts of *N. sativa* with 250; 500; 750 mg/kg BW rank dose. Group 5 was given corn oil. Renal cell histopathology was observed by H&E and AgNOR staining. The inhibition of renal cell proliferation was observed with mAgNOR value. mAgNOR data were analyzed using Kolmogorov-Smirnov test, ANOVA and Tukey HSD. The results of H&E and AgNOR staining showed that at a dose of 750mg/kg BW chloroform extract of *N. sativa* reduced cell damage and inhibit renal cells proliferation with mAgNOR value of 1.069. This result suggest that the chloroform extract of *N. sativa* had the potential effect as chemopreventive agent.

Keywords: *Nigella sativa*, DMBA, renal cell, rat, carcinogenesis.

* Penulis korespondensi, Tlp. +62-281-642840
e-mail: heny240377@gmail.com

PENDAHULUAN

KANKER ginjal merupakan jenis kanker yang lebih banyak menyerang pria daripada wanita dengan rasio 8 : 5. Tiap tahun sekitar 150.000 kasus kanker ginjal terjadi di seluruh dunia⁽¹⁾ dan 40 % pasien meninggal akibat penyakit ini⁽²⁾. Struktur dan fungsi ginjal yang kompleks menyebabkan adanya sel malignan pada salah satu bagian ginjal dapat berkembang dan disebut sebagai kanker ginjal. Renal cell carcinoma (karsinoma sel ginjal) merupakan tipe umum dari kanker ginjal dan membentuk 80 % sampai 85 % dari semua tumor ganas primer di ginjal. Karsinoma sel ginjal berasal dari sel-sel yang melapisi tubulus renalis⁽²⁾.

Umumnya pasien mendapat terapi kanker setelah sel kanker mencapai tahap progresi atau bahkan metastasis sehingga sulit untuk disembuhkan⁽³⁾. Namun sebenarnya penanganan kanker dapat dilakukan sebelum terjadinya kanker dan penghambatan progresivitasnya. Istilah ini kita kenal dengan kemopreventif. Kemopreventif adalah penggunaan bahan alam maupun sintetik, serta agen biologis, baik tunggal maupun kombinasi, untuk mengenali, mencegah timbulnya kanker dan menekan perkembangan kanker dari tahapan inisiasi sampai invasi dan mengembalikan ke fungsi normal. Pada sel kanker terjadi peningkatan proliferasi sel yang tidak terkontrol akibat multiple mutation pada gen-gen pengatur pertumbuhan sel⁽⁴⁾.

N. sativa merupakan salah satu tanaman yang memiliki efek kemopreventif, ini dibuktikan dengan penelitian *in vitro* yang menyatakan bahwa ekstrak kloroform *N. sativa* memiliki aktivitas sitotoksik dengan IC₅₀ sebesar 124,206 µg/mL pada sel T47D⁽⁵⁾.

Pengembangan obat dari bahan alam tidak dapat berhenti hanya pada tahap penelitian *in vitro*, namun perlu dilakukan penelitian *in vivo* lanjutan untuk mengetahui potensi bahan alam. Berdasarkan hasil penelitian *in vitro* sebelumnya tentang aktivitas

sitotoksik ekstrak kloroform *N. sativa* tersebut, maka dilakukan studi *in vivo* aktivitas *N. sativa* sebagai agen kemopreventif. Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antikarsinogenesis dari *N. sativa* pada sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur *Sprague Dawley* umur 30 - 40 hari dengan berat badan 50-150 gram yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta. Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak kloroform biji *N. sativa* (biji *N. sativa* diperoleh dari CV Toga Nusantara, Bekasi, Jawa Barat), 7,12-dimetilbenz [a] antrasene (DMBA) (Sigma Chem., Steinherm) sebagai agen penginduksi kanker ginjal, minyak jagung (*corn oil*) sebagai pelarut DMBA dan pensuspensi ekstrak kloroform *N. sativa*, akuabides, dapar formalin 10 %, parafin, minyak imersi, haematoksin dan eosin untuk pengecatan H&E, serta perak nitrat (AgNO₃) sebagai pewarna pengecatan AgNOR.

Alat. Mikroskop cahaya (Olympus, Japan).

METODE. Induksi karsinogenesis dengan DMBA dan perlakuan dengan ekstrak kloroform *N. sativa*. Tikus betina *Sprague Dawley* diadaptasikan di kandang percobaan selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan. Berat badan tikus ditimbang secara rutin tiap minggu selama percobaan berlangsung, data berat badan digunakan untuk perhitungan dosis yang diberikan pada hewan uji. Tikus dibagi menjadi lima kelompok secara random, tiap kelompok terdiri atas 12 ekor. Senyawa uji diberikan selama 7 minggu dan DMBA diberikan selama 5 minggu, dilanjutkan dengan pengamatan selama 7 minggu. Jadwal dan frekuensi pemberian larutan ekstrak *N. sativa*, larutan DMBA, dan minyak jagung pada kelompok hewan uji dapat dilihat pada Tabel 1.

Pemeriksaan histopatologi. Pada akhir pengamatan dilakukan nekropsi pada tikus dan

Tabel 1. Jadwal pemberian dan frekuensi pemberian larutan ekstrak *N. sativa*, larutan DMBA, dan minyak jagung pada kelompok hewan uji.

Kelompok	Pemberian per oral	Jadwal Pemberian (minggu ke-)	Frekuensi Pemberian
1	Larutan DMBA dalam <i>corn oil</i> dosis 20 mg/kg bb	3, 4, 5, 6, 7	2 kali per minggu
2	Ekstrak 250 mg/kg bb	1 sampai 7	1 kali sehari, setiap hari
	Larutan DMBA dalam <i>corn oil</i> dosis 20 mg/kg bb	3, 4, 5, 6, 7	2 kali per minggu
3	Ekstrak 500 mg/kg bb	1 sampai 7	1 kali sehari, setiap hari
	Larutan DMBA dalam <i>corn oil</i> dosis 20 mg/kg bb	3, 4, 5, 6, 7	2 kali per minggu
4	Ekstrak 750 mg/kg bb	1 sampai 7	1 kali sehari, setiap hari
	Larutan DMBA dalam <i>corn oil</i> dosis 20 mg/ Kg bb	3, 4, 5, 6, 7	2 kali per minggu
5	Minyak jagung (<i>corn oil</i>)	1 sampai 7	1 kali sehari, setiap hari

diambil organ ginjal untuk selanjutnya dibuat preparat histologis, dilakukan pengecatan H&E dan AgNOR⁽⁶⁾. Kondisi sel dan jumlah *blackdots* tiap sel diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Kondisi sel yang tampak, baik kerusakan ataupun degenerasi yang terjadi dibandingkan dengan histologi sel ginjal dalam buku *Color Atlas Histology and Microscopic Anatomy*⁽⁷⁾.

Analisis data. Analisis dilakukan secara kuantitatif terhadap proliferasi sel. Nilai mAgNOR ditentukan dengan menghitung rata-rata *blackdots* pada minimal 100 sel yang diamati⁽⁸⁾. Data pengamatan mAgNOR dianalisis secara statistik dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk melihat apakah data terdistribusi normal. Jika data terdistribusi normal, dilanjutkan dengan metode parametrik uji satu arah (*one way*) ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% yang diteruskan dengan uji Tukey HSD.

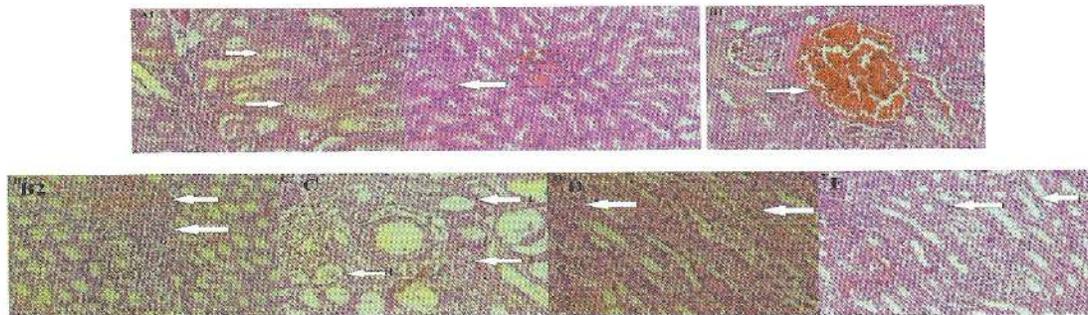
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh *N. sativa* pada kerusakan sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA. Hasil pengecatan H&E pada jaringan ginjal, menunjukkan sel ginjal pada kelompok DMBA + dosis ekstrak kloroform *N. sativa* 500 mg/kg BB dan kelompok DMBA + dosis ekstrak kloroform *N. sativa* 750 mg/kg BB mengalami perbaikan. Paparan karsinogen menyebabkan kerusakan sel, yang merupakan proses pertahanan yang dilakukan oleh sel untuk menjaga kelangsungan hidupnya dengan beregenerasi. Keadaan histopatologi sel ginjal pada semua kelompok perlakuan dapat dilihat dengan pengecatan H&E, yang disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil histopatologi ginjal, sel ginjal pada kelompok kontrol DMBA mengalami inflamasi akut dan hidropik pada hampir sebagian besar jaringannya (Gambar A). Inflamasi akut merupakan respon mendadak sel terhadap suatu rangsangan fisika, kimia, maupun mikrobiologi yang menyebabkan terjadinya vasodilatasi, kerusakan vaskular dan edema. Degenerasi hidropik merupakan salah satu contoh yang paling umum dari jejas reversibel. Degenerasi hidropik menunjukkan adanya edema intraseluler, yaitu adanya peningkatan kandungan air pada rongga-rongga sel selain peningkatan kandungan air pada mitokondria dan retikulum endoplasma. Pada sel hidropik terlihat banyak sekali *gross* (gerombolan) sel yang berisi cairan⁽⁷⁾.

Sel ginjal pada kelompok DMBA + dosis ekstrak kloroform *N. sativa* 250 mg/kg BB (Gambar B1) sel mengalami inflamasi akut dengan tepiannya nekrosis dan terlihat sebagian besar sel telah nekrosis (Gambar B2). Nekrosis terlihat dengan banyaknya sel yang mengumpul dan berwarna hitam. Nekrosis terjadi setelah adanya kerusakan yang diinduksi oleh rangsangan fisika, kimia, maupun mikrobiologi. Nekrosis mengontrol disfungsi mitokondria, deplesi ATP, proteolisis oleh *calpains* dan *cathepsin*, dan rupturnya membran plasma. Pada nekrosis terjadi degradasi DNA yang disebabkan oleh enzim endonuklease, yang aktif bila kadar ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} meningkat, dan dihambat bila kadar Zn^{2+} meningkat⁽⁹⁾.

Kelompok DMBA + dosis ekstrak kloroform *N. sativa* 500 mg/kg BB menunjukkan hanya sebagian kecil sel yang mengalami degenerasi hidropik (Gambar C, panah 1) dan sebagian besar keadaan sel normal (Gambar C, panah 2). Kelompok DMBA



Gambar 1. Histologi jaringan ginjal dengan pengecatan H&E pada semua kelompok. Perbesaran 400x, kondisi sel ditunjukkan dengan panah putih; (A₁ & A₂) Kelompok kontrol DMBA : dosis 20 mg/kg BB dalam *corn oil*; (A₁) Sel ginjal mengalami inflamasi akut; (A₂) Sel ginjal mengalami degenerasi hidropik; (B₁ & B₂) Kelompok DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 250 mg/kg BB; (B₁) Sel mengalami inflamasi akut dengan nekrosis pada tepian tubulus; (B₂) Sebagian besar sel mengalami nekrosis (C) Kelompok DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 500 mg/kg BB, sel mengalami degenerasi hidropik (panah 1), sebagian lainnya kondisi sel normal (panah 2); (D) Kelompok DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 750 mg/kg BB, keadaan sel sebagian besar normal; (E) Kelompok kontrol *corn oil*, kondisi sel tubulus ginjal sebagian besar dalam keadaan normal.

+ dosis ekstrak kloroform *N. sativa* 750 mg/kg BB menunjukkan sebagian besar sel normal (Gambar D). Sel yang normal juga tampak pada kelompok 5 yaitu kelompok kontrol *corn oil* (Gambar E). Sel normal ditandai dengan adanya bentuk yang teratur, mengelilingi tubulus ginjal, dengan inti berwarna merah keunguan apabila diwarnai menggunakan H&E⁽⁷⁾.

Proses perbaikan dan regenerasi melibatkan peran 3 hal yaitu produksi dan aktivasi *growth factor*, sintesis dan deposisi dari *endothelial cell membrane*, dan restorasi dari integrin *endothelial cell membrane*, pada proses regenerasi ada suatu peningkatan regulasi siklus sel. Proses perbaikan sel menghasilkan perbaikan fungsi fisiologis dan mengembalikan polaritas sel, selanjutnya berdiferensiasi mengembalikan fungsi tubulus. Sedangkan pada proses regenerasi, adanya peningkatan regulasi siklus sel memicu proliferasi dan migrasi sel, sehingga terbentuk sel baru yang melapisi kembali sel tubulus ginjal dan berdiferensiasi. Perbaikan maupun proses regenerasi ini sama – sama mengembalikan fungsi dari sel tubulus proksimal ginjal⁽¹⁰⁾.

Ekstrak *N. sativa* mengandung minyak atsiri, minyak lemak, d-limonena, simena, glukosida, saponin, zat pahit, jigelin, nigelon, dan timokuinon⁽¹¹⁾, sehingga ada kemungkinan beberapa senyawa yang terdapat dalam ekstrak *N. sativa* dapat menginduksi enzim GST (*glutathion-S-transferase*) melalui mekanisme aktivasi transkripsi. Peningkatan ekspresi GST dapat meningkatkan metabolisme detoksifikasi DMBA, dan dapat berfungsi sebagai antikarsinogenesis dengan meningkatkan ekskresi senyawa-senyawa karsinogen dan menurunkan interaksi karsinogen dengan DNA. Dalam proses transkripsi,

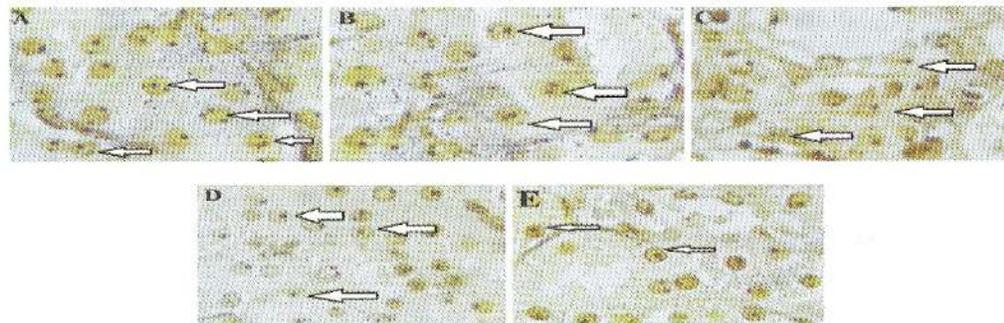
diperlukan respon elemen, dimana untuk transkripsi gen GST, dapat melalui ARE, XRE, GPE, maupun GRE. Senyawa dalam ekstrak yang berupa alkaloid dan terpenoid, dapat mengaktifasi Nrf2 sehingga dapat mengenali sekuen spesifik yang disebut ARE⁽¹²⁾.

Selain itu, kandungan asam linoleat, asam palmitat, dan asam oleat pada *N. sativa* memberi efek protektif pada tikus melalui penurunan stres oksidatif dan aktivitas karsinogenesis⁽¹³⁾. Minyak *N. sativa* yang diberikan setiap hari selama 1 minggu pada tikus memberikan efek protektif melalui proses *down regulation* produksi NO dan *up-regulation* IL-10 (anti-inflamasi)⁽¹⁴⁾.

Pengaruh *N. Sativa* pada proliferasi sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA. Besarnya proliferasi sel dapat dilihat dengan menghitung mAgNOR dari sel ginjal. Semakin banyak sel yang berproliferasi tidak sempurna, maka semakin tinggi pula nilai mAgNOR. Hasil pengecatan AgNOR pada sel ginjal tikus dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai mAgNOR masing-masing kelompok diwakilkan dari hasil pengamatan pada 3 ekor tikus. Hasil perhitungan nilai mAgNOR pada semua kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil perhitungan, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak kloroform *N. sativa* dapat meningkatkan daya hambat proliferasi sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA. Data mAgNOR dianalisis menggunakan *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan rata – rata mAgNOR dari semua kelompok perlakuan.

Nilai mAgNOR per kelompok yang diperoleh, dianalisis statistik dengan kolmogorov smirnov. Data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Data mAgNOR



Gambar 2. Profil proliferasi pada sel ginjal tikus dengan pengecatan AgNOR. Perbesaran 400x, *blackdot* pada sel ditunjukkan dengan panah putih. (A) kelompok kontrol DMBA : dosis 20 mg/kg BB dalam *corn oil*; dalam 1 sel, memiliki 3, 2 atau 1 *blackdot*; (B) DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 250 mg/kg BB; dalam 1 sel, memiliki 2 atau 1 *blackdot* (C) DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 500 mg/kg BB; dalam 1 sel, sebagian besar memiliki 1 *blackdot*, beberapa memiliki 2 *blackdot*; (D) DMBA + ekstrak kloroform *N. sativa* 750 mg/kg BB; dalam 1 sel, sebagian besar ada 1 *blackdot*; (E) kelompok kontrol *corn oil*, , dalam 1 sel, sebagian besar memiliki 1 *blackdot*.

Tabel 2. Hasil perhitungan nilai mAgNOR semua kelompok (n = 15).

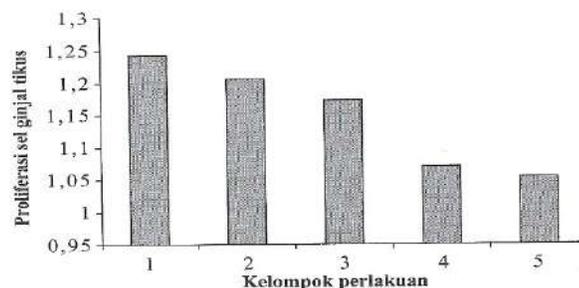
Kelompok	Tikus	Jumlah <i>blackdot</i>	Jumlah sel	Nilai mAgNOR	Rata-rata mAgNOR ± SD
1 (Kontrol DMBA)	1	126	102	1,235	1,242 ± 0,004
	2	131	106	1,248	
	3	133	107	1,243	
2 (Ekstrak dosis 250 mg/KgBB & DMBA)	1	131	103	1,272	1,205 ± 0,123
	2	128	100	1,280	
	3	170	160	1,063	
3 (Ekstrak dosis 500 mg/KgBB & DMBA)	1	179	154	1,162	1,172 ± 0,036
	2	137	120	1,142	
	3	138	114	1,211	
4 (Ekstrak dosis 750 mg/KgBB & DMBA)	1	128	127	1,008	1,069 ± 0,053
	2	113	102	1,108	
	3	109	100	1,090	
5 (Kontrol <i>Corn oil</i>)	1	138	134	1,029	1,053 ± 0,026
	2	121	112	1,080	
	3	154	147	1,047	

dapat diuji menggunakan *one way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rata-rata mAgNOR dari semua kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

Hasil analisis menggunakan ANOVA menunjukkan rata-rata mAgNOR antara kelima kelompok berbeda signifikan ($p < 0,05$). Nilai F hitung dari sampel data mAgNOR adalah 5,300 dan dari data F tabel adalah 3,4780. Karena F hitung lebih besar daripada F tabel, maka H_0 ditolak, artinya rata-rata mAgNOR kelima kelompok berbeda signifikan.

Uji Tukey HSD merupakan analisis lanjutan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan. Hasil Uji Tukey HSD ($p < 0,05$), nilai mAgNOR kelompok 1 (kontrol DMBA) berbeda signifikan dengan kelompok 4 (DMBA + ekstrak 750 mg/kg BB) dan kelompok 5 (kontrol *corn oil*). Hal ini berarti ekstrak kloroform *N. sativa* pada dosis 750 mg/kg BB dapat menghambat proliferasi sel yang meningkat akibat paparan DMBA. Selain itu, nilai mAgNOR pada kelompok 4 hampir mendekati nilai mAgNOR kelompok 5. Hasil ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak *N. sativa* dosis 750 mg/kg BB dapat menurunkan proliferasi pada tikus yang diinduksi DMBA, hingga mendekati kondisi normal seperti kelompok kontrol *corn oil*.

Pemberian ekstrak *N. sativa* pada tahap inisiasi dapat menghambat proliferasi pada sel ginjal tikus yang diinduksi oleh DMBA. Proliferasi pada sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA terbukti menurun pada peningkatan dosis ekstrak kloroform *N. sativa* yang diberikan. Penurunan ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik penurunan proliferasi sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA pada peningkatan konsentrasi ekstrak *N. sativa* (rata-rata mAgNOR). 1: Kelompok DMBA, 2: Kelompok ekstrak dosis 250 mg/kg BB dan DMBA, 3: Kelompok ekstrak dosis 500 mg/kg BB dan DMBA, 4: Kelompok ekstrak dosis 750 mg/kg BB dan DMBA, 5: Kelompok *corn oil*.

Mekanisme regenerasi sel yang rusak, dapat berupa aktivasi sinyal proliferasi dengan tujuan mengganti sel yang rusak. Proliferasi atau pertumbuhan sel yang berlebihan dan kerusakan sel merupakan tanda khas kanker. Regulasi pertumbuhan sel diatur oleh proto onkogen, *tumor suppressor gene*, dan gen *gate keeper*. Kerusakan pada gen yang mengatur regulasi pertumbuhan sel, menimbulkan proliferasi sel menjadi tidak terkontrol⁽⁴⁾.

Mekanisme penghambatan proliferasi sel ginjal adalah ekstrak kloroform *N. sativa* dapat menghambat bioaktivasi DMBA yang merupakan pro karsinogen, menjadi DMBA 3,4-diol-1,2-epoksida yang merupakan karsinogen aktif oleh isoenzim CYP1B1 yang terdapat pada organ ginjal. Sehingga

dengan penghambatan tersebut maka DMBA tidak dapat menjadi aktif dan tidak merusak DNA. CYP1B1 merupakan isoenzim yang metabolisme senyawa-senyawa *polycyclic aromatic, nitro aromatic hydrocarbon*, dan *arylamines*⁽¹⁵⁾. Triptamin yang terkandung dalam *N. sativa* memiliki struktur *arylamines* yang dimetabolisme secara khusus oleh CYP1B1. *N. sativa* yang mengandung triptamin, telah diberikan 2 minggu sebelum pemberian DMBA yang memiliki struktur *polycyclic aromatic hidrocarbon*. Hal ini berarti, enzim CYP1B1 telah terlebih dahulu berikatan dengan triptamin, maka ketika kemudian DMBA masuk, molekul DMBA harus berkompetisi dengan triptamin untuk dapat dibioaktivasi oleh CYP1B1. Sehingga pemberian *N. sativa* (triptamin) menghambat bioaktivasi DMBA oleh CYP1B1.

Eksresi enzim CYP1B1 paling banyak terdapat pada sel ginjal dan meningkat aktivitasnya pada sel tumor⁽¹⁵⁾. Hal ini juga mendukung pernyataan sebelumnya, bahwa ketika enzim CYP1B1 telah diekspresikan untuk memetabolisme triptamin, kemudian tanpa adanya sel tumor, maka jumlahnya tidak akan meningkat, sehingga DMBA tetap tidak dapat dimetabolisme oleh enzim ini. Namun, apabila sebagian DMBA tetap dapat termetabolisme oleh CYP1B1 dan kemudian menjadi karsinogen aktif yang berupa DNA damage agent, *N. sativa* memiliki mekanisme lain, yaitu memicu ekspresi protein p53 dan induksi apoptosis⁽¹⁶⁾.

Biji jintan hitam dapat meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis (Bad, Bax, Bid) dan dapat menurunkan regulasi protein anti-apoptosis diantaranya dapat menghambat ekspresi bcl-2 dan bcl-X L. Biji jintan hitam juga memiliki kemampuan untuk menginduksi apoptosis melalui jalur caspase 3, caspase 9 dan p53. P53 akan memacu ekspresi CKI (*cyclin kinase inhibitor*) yaitu p21 dan menginduksi apoptosis dengan cara menyandi protein Bax sehingga terjadi pelepasan sitokrom C dari mitokondria. Sitokrom C bersama dengan Apaf-1 akan mengaktifkan caspase 9⁽¹⁷⁾.

Selanjutnya caspase 9 akan mengaktifkan caspase 3, 6 atau 7. DNA damage agent akan menginduksi aktivasi kinase (seperti ATM dan DNA-PK) yang dapat memfosforilasi *critical* residu serin dalam domain Mdm2 binding domain dari p53. Fosforilasi p53 pada serin-15 dan serin-37 oleh ATM atau protein kinase lain setelah terjadi kerusakan DNA dapat mencegah ikatan MDM2 dengan p53. Jadi, ketika p53 terfosforilasi maka p53 tidak dapat mengikat mdm2. Kemudian, inilah yang mampu menghilangkan penghambatan p53 dimediasi mdm2. DNA damage agent mengaktifkan p53 dan p53 mengenali ketika sel telah mengalami kerusakan DNA dan menghentikan

siklus sel (*cell cycle arrest*) sehingga sel dapat memperbaiki kerusakan (repair), atau apoptosis, yaitu dengan cara menstimulasi transkripsi gen seperti p21 dan Bax sehingga siklus sel berhenti atau terjadi apoptosis⁽¹⁷⁾. Penelitian lain menunjukkan bahwa derivat triptamin mampu menginduksi mediator penginduksi apoptosis pada leukemia⁽¹⁸⁾.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keadaan sel tidak mengalami kerusakan oleh induksi DMBA pada pemberian ekstrak kloroform *N. sativa* dosis 750 mg/kg BB, dan juga menghambat proliferasi sel ginjal tikus yang diinduksi DMBA dengan nilai mAgNOR sebesar 1,069. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform *N. sativa* mempunyai potensi untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif.

SARAN

Penelitian mengenai uji toksisitas ekstrak kloroform *N. sativa* perlu dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zbar B, Klausner R, Linehan WM. Studying cancer families to identify kidney cancer genes. *Annu. Rev. Med.* 2003. 54:217-33.
2. Grignon DJ and Eble JN. Renal neoplasm. In: Jennette JC *et al*, editors. *Heptinstall's pathology of the kidney*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 1492-502.
3. Muqbil I. and Banu N. Enhancement of pro-oxidant effect of 7,12-dimethylbenz(a) anthracene (DMBA) in rats by pre-exposure to restraint stress. *Cancer Letters*. 2006. 240:213-20.
4. Hanahan G and Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2011. 100:57-70.
5. Ekowati H, Prasasti E, Rastuti U. The active fraction from *Nigella sativa* and its activity against T47D cell line. *Indo. J. Chem.* 2011. 11(3):217-22.
6. Anonim. Prosedur tetap pembedahan hewan uji. Yogyakarta: Cancer Chemoprevention Research Center, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2008. 1-5.
7. Kuehnel W. Color atlas of cytology, histology, and microscopic anatomy. New York: Thieme Stuttgart; 2003. 352-72.
8. Anonim. Prosedur tetap pengecatan AgNor. Yogyakarta: Cancer Chemoprevention Research Center, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2008. 1-5.
9. Golstein P and Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Biochemical Sciences*. 2006. 32(1):37-43.
10. Nony PA and Schnellmann RG. Mechanisms of renal cell repair and regeneration after acute renal failure.

- The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2003. 304(3):905-12.
11. Ivankovic S, Stojkovic R, Jukic M, Milos M, Jurin MMM. The antitumor activity of thymoquinone and thymohydroquinone *in vitro* and *in vivo*. *Experimental Oncology* . 2006. 28:220-4.
 12. Nguyen T, Sherratt PJ, Pickett CB. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2003. 43:233-60.
 13. Ilaiyaraja N and Khanum F. *Nigella Sativa* L. A review of therapeutic applications. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. 2010. 4(2):1-8.
 14. Mehta BK, Pandit V and Gupta M. New principles from seeds of *Nigella sativa*. *Nat Prod Res*. 2009. 23(2):138-48.
 15. McFadyen MCE, Melvin WT, Murray GI. Cytochrome P450 CYP1B1 activity in renal cell carcinoma. *British Journal of Cancer*. 2004. 91: 966-71.
 16. Yazan LS, Ng WK, Al-Naqeeb G, Ismail M. Cytotoxicity of thymoquinone (TQ) from *Nigella sativa* towards human cervical carcinoma cells (HeLa). *Journal of Pharmacy Research*. 2009. 2(4):585-9.
 17. Zaher KS, Ahmed WM, Zerizer SN. Observation on the biological effects of black cumin seed (*Nigella sativa*) and green tea (*Camellia sinensis*). *Global Veterinaria*. 2008. 4:198-204.
 18. Kojima K, Burks JK., Arts J, Andreeff M. The novel tryptamine derivative induces ild-type p53- and E2F1-mediated apoptosis in acute myeloid and lymphoid leukemias. *Mol Cancer Ther*. 2010. 9(9):2545-57.